ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1930 — N° 29

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1930

PAR

LUCAM (Félix-Charles-Eugène)

Né le 19 novembre 1906, à Ferrières-en-Gatinais (Loiret)

ÉTUDE SUR LA PERMÉABILITÉ DES ENVELOPPES DES ŒUFS AUX INFECTIONS MYCÉLIENNES

JURY { *Président :* LEMIERRE, professeur à la Faculté de Médecine
Assesseurs : { NICOLAS, VERGE } professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1930

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1930 — N° — 23

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1930

PAR

LUCAM (Félix-Charles-Eugène)

Né le 19 novembre 1906, à Ferrières-en-Gatinais (Loiret)

ÉTUDE SUR LA PERMÉABILITÉ DES ENVELOPPES DES ŒUFS AUX INFECTIONS MYCÉLIENNES

JURY
- *Président :* LEMIERRE, professeur à la Faculté de Médecine
- *Assesseurs :* NICOLAS, VERGE — professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1930

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. Cadiot et H. Vallée

Directeur : M. E. Nicolas

Professeurs honoraires : MM. G. Barrier, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires ; P.-J. Cadiot, A. Railliet, H. Vallée.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques..	Bressou.
Physiologie, thérapeutique générale.....	Maignon.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie.....	Nicolas.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie.....	Henry.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.....	Robin.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	Coquot.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique	Lesbouyries.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique..	Panisset.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies	Petit.
Zootechnie et économie rurale	Dechambre.
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale.....	Dechambre et Henry.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale.....	Verge.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. Lesbouyries.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

CHEF DE TRAVAUX AGRÉGÉ

M. Simonnet.

CHEFS DE TRAVAUX

M. Monvoisin. M. Moussu (R.).

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

ÉTUDE SUR LA PERMÉABILITÉ DES ENVELOPPES DES ŒUFS AUX INFECTIONS MYCÉLIENNES

A M. le Professeur LEMIERRE

A M. le Professeur NICOLAS

A. M. le Professeur VERGE

A. M. MONVOISIN

Chef de travaux à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

Témoignage d'affectueuse reconnaissance

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552422_0035

Etude sur la perméabilité des enveloppes des œufs aux infections mycéliennes

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Les recherches sur la possibilité de l'infection microbienne ou mycélienne des œufs de poule après la ponte, conséquence de la perméabilité de leurs enveloppes vis-à-vis des germes microbiens ou mycéliens, ne sont pas très abondantes et sont relativement récentes.

Pancéri, en 1860, réussit à infecter des œufs en déposant à la surface de la coquille des spores provenant de Sporothricum albuminis et d'un Verticillum, et en les maintenant à 22° dans une atmosphère humide.

En 1875, Gayon fait les constatations suivantes : « En plaçant des œufs de poule dans une atmosphère humide et à 25°, on remarque que la coquille se recouvre de moisissures très variées. Quelques jours après, l'intérieur était envahi d'organismes, indiquant par leurs caractères leur identité avec ceux de la surface.

« Dans beaucoup d'autres cas, il est impossible d'admettre cette pénétration ; j'ai trouvé des œufs tachés, dont la surface, vue à la loupe, n'a jamais présenté la moindre trace de moisissures ; de plus, il n'y avait aucune trace de passage de mycélium entre la coquille et la membrane coquillière (on aurait pu supposer, en effet, qu'une spore avait germé sur la coquille, que son mycélium avait traversé celle-ci et qu'ensuite elle s'était desséchée. »

Dans une autre expérience, il mit six œufs dans « de l'eau

de levure renfermant des bactéries mobiles et immobiles, pendant un, deux, trois, quatre, cinq, six, sept jours ». Dans aucun cas il ne trouve d'organismes à l'intérieur des œufs. Il conclut que, « malgré leur mobilité, les bactéries n'ont pu traverser la coquille à la pression ordinaire, qu'elles sont comme les poissons qui ne sortent jamais de leur élément, tandis que les filaments mycéliens pénètrent dans les pores, comme les racines d'une plante ».

Il explique ainsi « pourquoi les proportions des œufs tachés est beaucoup plus grande que celle des œufs pourris ». Il admet donc que la pénétration de la coquille par les moisissures peut se produire dans certains cas.

En 1893, Lucet réalise une série d'expériences très démonstratives. Il isole de certains œufs de canards qui, au mirage, se montraient tachés, de l'Aspergillus fumigatus. Il dépose six œufs de poule, frais, préalablement lavés, sur un lit d'ouate semé de spores de cet Aspergillus (le lit en est brun). Il place le tout à l'étuve à 39°, en atmosphère humide. Deux d'entre eux sont cassés quelques jours plus tard pour être examinés. Les autres sont laissés jusqu'à complète incubation. Trois éclosent normalement et, dans aucun cas, il ne s'est développé de moisissures à l'intérieur de ces œufs.

L'expérience est renouvelée l'année suivante sur quatre œufs, avec le même résultat négatif. Pas davantage de résultats, si l'on applique directement sur la coquille des quantités énormes d'Aspergillus, ou bien encore si les spores sont maintenues sur la coquille, par quelques gouttes d'eau distillées. Mais par contre, des résultats positifs sont obtenus presque à coup sûr, si les spores sont maintenues dans des substances où elles sont susceptibles d'évoluer : gélose, gélatine, beurre ou axonge légèrement salée. Il suffit d'appliquer une couche excessivement mince de l'enduit sur une portion limitée de la coquille et de déposer l'œuf sur un lit d'Aspergillus. La contamination est réalisée dans presque tous les cas en huit à neuf jours.

Wratch, en 1896, contamine des œufs en les abandonnant dans un bouillon de culture de Vibrion cholérique. Il constate que l'infection du blanc se produit en deux jours. Il réalise encore leur contamination en les déposant dans du foin, imbibé de la même culture.

Rappin et Tharaud, en 1908, admettent la perméabilité des coquilles vis-à-vis des germes microbiens et Artault contamine des œufs avec du B. Prodigiosus, sous l'influence d'un changement de température, provoquant une condensation de vapeur d'eau à leur surface.

Chrétien, la même année, rapporte les faits suivants : pour Cao, la pénétration des microbes, à travers les coquilles, est possible à la faveur de l'humidité ; pour Zimmermann, l'œuf s'infecterait surtout avant la ponte, dans l'oviducte, les germes étant apportés par les organes génitaux du coq au moment du coït ; pour Schranck, l'infection serait presque toujours due à la pénétration de germes à travers la coquille ; Zörkendorfer considère que la coquille et la membrane coquillère servent de filtre vis-à-vis des microbes, mais que leur rôle protecteur est fortement diminué par l'humidité ; pour Wilm, la pénétration à travers la coquille n'est possible que si le microbe est doué d'une certaine mobilité et possède des dimensions suffisamment restreintes.

En 1917, Husson et Lindet trouvent que les œufs crus s'altèrent moins vite que les œufs cuits dur, la membrane coquillère devenant, par suite de la chaleur, beaucoup plus perméable aux germes.

Rolet rapporte, en 1920, les conclusions suivantes : d'après Caldwell et Mason, la pénétration serait difficile à travers la coquille, après la ponte, et la contamination serait plutôt due à des germes se trouvant occasionnellement dans l'ovaire ; d'après Otto Maurer, la coquille et la membrane coquillère opposeraient une barrière infranchissable à la propagation des germes venus du dehors. Pour Rolet lui-même, la pénétration

des moisissures se ferait, par suite de la sécrétion d'un acide qui attaquerait la substance minérale.

Enfin, Cartier, en 1922, réalise le passage du B. Pyocyanique à travers la coquille, en immergeant un œuf dans une culture de ce bacille et en plaçant le tout à l'étuve à 37° pendant quarante heures. L'infection était réalisée au quatrième jour.

Nous pouvons retenir, de cet exposé de faits, deux idées générales : la première, c'est que, malgré les divergences de vues de certains auteurs, la perméabilité des coquilles des œufs, vis-à-vis des germes microbiens ou mycéliens, est généralement admise ; la seconde, c'est que la pénétration n'est possible que dans certaines conditions de température et d'humidité et que si le germe trouve à la surface même de l'œuf un milieu favorable à son évolution (tout au moins, dans ce cas, la contamination sera infiniment plus probable).

Dans ce travail, nous essaierons de déterminer la structure entière des coquilles et leur résistance à la pénétration des germes ; puis, nous étudierons l'action des causes favorisant cette pénétration ; enfin, nous tâcherons de savoir si, vis-à-vis de l'infection mycélienne, toutes les coquilles des différents œufs de poule se comportent de la même façon.

CHAPITRE II

STRUCTURE DES ENVELOPPES DES ŒUFS DE POULE

Nous pouvons diviser les œufs de poule en deux catégories, en se plaçant au point de vue de la coloration de leur coquille : les œufs à coquille blanche et les œufs à coquille brune. Nous examinerons successivement la structure respective des uns et des autres.

A. — *Structure des enveloppes des œufs blancs.*

a) **Anatomie.** — Si l'on casse un œuf, qu'on le vide de son contenu et qu'on examine ses enveloppes, on trouve en allant à l'intérieur vers l'extérieur, la membrane coquillière et la coquille, celle-là adhérant à celle-ci et se clivant en deux feuillets au gros pôle de l'œuf pour former la chambre à air.

Si l'on saisit entre le pouce et l'index cette membrane, au niveau de la brisure de la coquille, on peut la décoller de cette dernière en tirant avec quelque précaution. Mais, en général, dans cette opération, la membrane se divise, par endroits et sur d'assez grandes surfaces, en deux feuillets, le premier beaucoup plus épais que le second, lequel reste adhérent à la face interne de la coquille et peut être décollé à son tour de la même façon que le premier.

Sous le second feuillet, se trouve la coquille proprement dite. Vue à la loupe, la face coquillière externe se montre criblée de fines dépressions, qui correspondraient à des pores, lesquels traceraient dans l'épaisseur de la coquille des trajets « tortueux et obliques », d'après Wittich ; au contraire, droits et perpendiculaires à la surface, d'après Gayon.

Celui-ci, en effet, réalise l'expérience suivante : à l'aide du vide, il fait pénétrer dans des œufs de l'encre ordinaire et il

observe « que la surface extérieure est restée teintée partout, mais avec des nuances plus foncées à l'endroit des pores », que « la membrane de la face interne a été criblée de petites taches noires plus ou moins larges, irrégulièrement distribuées, mais situées exactement au-dessus des points noirs qui indiquaient les pores à la surface externe » et qu'enfin « les dessins de la membrane étaient exactement superposables à ceux de la coquille ». De cette symétrie des dessins, il déduit la perpendicularité des trajets.

Enfin, Gayon attribue à ces pores une dimension diamétrale certainement inférieure à 5 μ. Il immerge, en effet des œufs dans de l'eau sucrée, ensemencée de levure de bière, fait le vide au-dessus du liquide, rétablit ensuite la pression et constate l'absence de cellules de levure à la surface interne de la coque. Or, les plus petites cellules ont 5 μ.

Considérant les enveloppes de l'œuf au point de vue de leur constitution chimique, nous savons que la membrane coquillière est formée d'albumine concrétée et que la coquille est constituée en majeure partie de substances minérales.

Chrétien nous donne les chiffres suivants :

Carbonate de chaux	90 %
Phosphate de chaux Phosphate de magnésie	5 %
Matières organiques	5 %

b) **Le Stroma organique.** — Essayons de déterminer avec un peu plus de précision, la structure intime de la coquille et étudions tout d'abord la disposition de la matière organique.

Des fragments de coquille sont tout d'abord débarrassés soigneusement, à leur face interne, des deux feuillets de la membrane coquillière. Puis on en dissout la matière minérale, en les immergeant dans une solution acide assez faible, acide acétique à 10 %, par exemple. Il importe, en effet, que cette déminéralisation s'opère lentement, pour que le stroma organique de la coquille soit respecté et puisse être examiné dans toute son intégralité.

Sitôt que l'on immerge les fragments, dans cette solution acide, on observe sur chacune de leurs faces un dégagement abondant de très fines bulles gazeuses. On laisse la déminéralisation se poursuivre ainsi et, après cinq ou six heures environ, apparaît, décollée de la face externe de la coquille par les bulles de gaz, une première membrane que nous appellerons pellicule externe de la coquille.

Cette pellicule, excessivement mince et fragile, transparente, se déchire avec une extrême facilité et adhère aux parois du vase et aux aiguilles à dissocier.

A ce moment, le dégagement gazeux est toujours abondant sur les deux faces de ce qui reste de la coquille.

Vingt-quatre heures plus tard, la dissolution de la substance minérale est totale et il ne reste plus de la coquille que deux autres pellicules recouvertes, et séparées l'une de l'autre, par de nombreuses bulles de gaz.

La plus externe (côté externe de la coquille), que nous appellerons pellicule moyenne, est fine, transparente également, mais un peu moins fragile que la première.

Enfin, la troisième, appelons-là pellicule interne, est blanche, translucide, beaucoup plus épaisse et résistante que les deux premières et tout à fait semblable au deuxième feuillet de la membrane coquillière.

Donc, les enveloppes de l'œuf peuvent être dissociées en cinq feuillets, qui sont, en allant de l'intérieur vers l'extérieur : premier feuillet de la membrane coquillière et deuxième feuillet de la même ; puis les trois pellicules : interne, moyenne et externe de la coquille. Nous pouvons remarquer que la fragilité de ces membranes croît de la première à la dernière.

Etudions-les séparément, à l'aide du microscope.

Vu sans coloration, le premier feuillet de la membrane coquillière présente l'aspect d'une surface gris argent, rayée de fines stries, très serrées et dirigées dans tous les sens. Après coloration à l'éosine ou au violet de gentiane phéniqué, on

s'aperçoit que cette membrane est constituée par un enchevêtrement très compliqué de fibres, colorées en rouge ou en violet, selon le colorant employé, et disposées dans toutes les directions ; croisements dans des plans horizontaux et verticaux, fibres allant d'une face à l'autre de la membrane.

Dans les endroits où celle-ci a laissé un peu de son épaisseur au second feuillet, ou a été légèrement déchirée, lors de son prélèvement sur l'œuf, les fibres moins serrées, moins tassées, laissent entre elles des espaces assez importants. L'apect est tout à fait semblable à celui que donnerait la superposition de plusieurs filets, dont les mailles de chacun d'eux auraient été réunies par des fils aux mailles de chacun des autres.

Mais, là où la membrane a conservé toute son épaisseur, la superposition de tous ces plans de fibres fait qu'il n'existe plus entre celles-ci d'espaces, ou plutôt de trajets, qui soient perpendiculaires à la surface et qui laissent seulement passer directement la lumière.

La coloration n'est obtenue que par les colorants acides ; le bleu de méthylène ne colore pas.

Le deuxième feuillet de la membrane coquillière et la pellicule interne de la coquille ont les mêmes réactions tinctoriales que ce premier feuillet. Examinés au microscope, ils présentent tous deux exactement la même structure que celui-ci, avec la seule différence que les fibres sont disposés sur une moins grande épaisseur, d'où la présence de nombreux trajets.

La pellicule moyenne de la coquille est très facilement colorée par l'éosine, le violet de gentiane phéniqué et le bleu de méthylène. Vue au microscope, elle n'offre aucune structure particulière, aucun enchevêtrement de fibres, analogue à ce que nous avions observé dans les feuillets précédents. Après coloration et examinée à l'objectif à immersion, nous n'observons qu'une teinte rouge, violette ou bleue, suivant le colorant, absolument uniforme. Sans coloration élective, et toujours à l'objectif à immersion, aucune structure n'est visible.

La pellicule externe, examinée dans des conditions analogues,

n'offre également aucune structure spéciale. Elle se différencie de la pellicule moyenne par sa minceur et sa fragilité, qui sont beaucoup plus grandes. D'autre part, elle n'est pas colorée par le bleu de méthylène.

Ces deux derniers feuillets des enveloppes de l'œuf nous sembleraient donc constitués par une sorte de lame d'albumine condensée.

c) **Substance minérale.** — Voyons de quelle façon est répartie la substance minérale parmi ces différents feuillets.

Lorsqu'on immerge des fragments de coquille dans l'acide acétique à 10 %, le dégagement gazeux est observé au bout de quelques secondes sur la face externe. Ceci indique donc que l'acide est entré presque immédiatement en contact avec la substance minérale. Par conséquent, ou bien la pellicule externe contient du calcaire, ou bien elle laisse filtrer rapidement l'acide, lequel attaque les sels minéraux sous-jacents ; elle se laisserait ensuite traverser, puis décoller par le gaz carbonique provenant de la réaction.

Dans le premier cas, la déminéralisation totale devrait laisser des espaces vides là où existaient des sels minéraux, espaces qui se traduiraient, après la coloration et examen microscopique, par la présence de pertuis plus ou moins grands dans cette pellicule. Or, nous avons vu que celle-ci ne présentait aucune structure, que la coloration était uniforme, qu'il n'y avait aucune solution de continuité, et ceci, observé dans un espace suffisamment grand pour éviter les causes d'erreur provenant de déchirures accidentelles qui auraient pu se produire lors des diverses manipulations.

Nous sommes donc obligés d'admettre la seconde hypothèse et de supposer que la pellicule externe est collée sur la substance minérale, mais sans être incrustée de cette dernière.

Dans les heures qui suivent le décollement de la pellicule externe et avant que ne se décollent à leur tour les pellicules, moyenne et interne, le dégagement gazeux est toujours très

abondant sur les deux faces de la coquille, laquelle a conservé la résistance et la dureté qu'elle offrait au début de l'opération. Il nous faudra attendre une dizaine d'heures environ, avant que les deux dernières pellicules deviennent apparentes. C'est donc que la pellicule moyenne est séparée de l'externe par une couche appréciable de sels minéraux.

Nous pouvons faire, pour la pellicule moyenne, le même raisonnement que pour la pellicule externe, à savoir : si elle contenait des sels minéraux, après déminéralisation, on devrait y voir des orifices, à l'examen microscopique. Or, comme, au contraire, elle n'offre aucune solution de continuité, si petite soit-elle, même vue à l'objectif à immersion, nous dirons qu'elle est simplement appliquée sur la couche de substance minérale qui la sépare de la pellicule externe.

Entre elle et la pellicule interne, existe également une deuxième couche minérale. Nous avons pu nous en rendre compte de la façon suivante : Si l'on sort de la solution acide les pellicules interne et moyenne, avant que la déminéralisation soit entière, il reste encore par endroits de petites plaques blanches, dures ; or, dans certains cas, en opérant avec quelque précaution, on peut séparer entièrement les deux feuillets, sans les déchirer, et l'on constate que ces plaques sont situées entre eux deux. C'est donc qu'il existe une couche, dont ces plaques ne représentent plus que des débris, résistant encore à l'action de l'acide.

Sous la pellicule interne existe une troisième couche, car, lors de l'immersion dans l'acide, l'action de celui-ci se traduit immédiatement sur la face interne de la coquille, par un dégagement gazeux abondant. D'autre part, avant que cette pellicule interne soit mise à nu, nous avons vu qu'il fallait attendre vingt-quatre heures environ, temps qui correspond à la dissolution totale de la substance qui la recouvrait.

Enfin, nous avons vu que la pellicule interne était constituée par un enchevêtrement de fibres qui laissaient entre elles de nombreux espaces vides. Il est donc logique de supposer que,

puisqu'elle est recouverte sur ses deux faces par la substance minérale, elle en est imprégnée et que les vides correspondent à la dissolution de cette substance.

En résumé, la structure complète des enveloppes d'un œuf à coquille blanche nous paraît être la suivante :

La pellicule externe, simple lame d'albumine condensée ;
Une première couche minérale ;
La pellicule moyenne, autre lame d'albumine condensée ;
Une deuxième couche minérale ;
La pellicule interne, incrustée de substance minérale ;
Une troisième couche minérale ;
Le premier feuillet de la membrane coquillière ;
Le second feuillet de la même.

B. — *Structure des enveloppes des œufs bruns.*

a) **Anatomie.** — Comme les œufs blancs, les œufs bruns offrent à étudier une coquille et une membrane coquillière, laquelle se clive également en deux feuillets. Le second feuillet, adhérant à la face interne de la coquille, est beaucoup plus mince que le premier.

La face externe de la coquille, vue à la loupe, se montre criblée, de la même façon, par de nombreuses et fines dépressions correspondant aux pores.

Un œuf brun étant cassé et vidé, on peut noter, tout d'abord, que la coloration brune n'existe qu'au niveau de la coquille proprement dite, car la membrane coquillière est blanche.

Or, si nous enlevons ces deux feuillets, on constate que la face interne de la coquille est encore rigoureusement blanche. Par conséquent, non seulement la coloration brune n'existe qu'au niveau de la coquille, mais elle n'existe que sur une certaine épaisseur de celle-ci et à l'extérieur.

Si nous prenons, entre le pouce et l'index, un fragment de coquille, de telle façon que sa face interne soit en contact étroit avec la pulpe de l'index, et si on râcle (doucement, pour éviter de la briser) sa face externe avec un scalpel, par exemple, on peut faire les remarques suivantes :

Tout d'abord, au début, cette surface externe est très dure, le scalpel glisse, ne mord pas. Puis la coquille est entamée et on s'aperçoit que la teinte franchement brune de la surface pâlit peu à peu, en même temps que diminue la dureté de la coquille. Bientôt, on arrive à une teinte franchement blanche et, à ce moment, la dureté est à peu près équivalente à celle de la craie. Ce passage, d'une teinte à l'autre, s'effectue insensiblement et il s'opère sur une épaisseur très faible ; si l'on examine, en effet, de profil la coquille au niveau de la plaque de grattage, la dénivellation entre les parties grattées et non grattées est à peine appréciable à l'œil. Donc, la coloration brune des œufs n'existe que sur une couche superficielle excessivement mince de la coquille

D'après certains auteurs, la coloration serait due à une sécrétion spéciale de la muqueuse de l'utérus ou de l'oviducte de certaines races de poules, comme les Faverolles (race française), les Sussex et les Rhode Island (races anglaises), les Wyandottes (race américaine), les Combattants Indiens et Malais (races asiatiques).

D'après d'autres, elle tiendrait tout simplement à de la bile mélangée aux excréments.

Examinons d'un peu plus près, comme pour les œufs blancs, la structure des enveloppes.

b) **Le Stroma organique.** — Comme précédemment, immergeons des fragments de coquille débarrassés préalablement des deux feuillets de la membrane coquillère dans une solution d'acide acétique à 10 %. Immédiatement, le dégagement gazeux est observé sur les deux faces et, après trois ou quatre heures, une première membrane se soulève de la surface externe. Nous l'appellerons pellicule externe. Cette pellicule est translucide, brune, très mince, fragile, et elle adhère aux aiguilles à dissocier.

Sous elle, donc toujours du côté extérieur, la coquille est devenue à peu près blanche et les gaz continuent de se dégager

abondamment sur les deux faces. Peu à peu, la face extérieure se fonce à nouveau et, vingt-quatre heures plus tard, la déminéralisation est totale.

A ce moment, il ne reste plus de la coquille que deux membranes : celle du côté interne de la coquille, que nous appellerons pellicule interne de la même, et l'autre, pellicule moyenne. La pellicule moyenne est brune, mince, translucide ; sa fragilité est intermédiaire entre celle des pellicules externe et interne. Cette dernière est blanche, translucide également et a tout à fait l'aspect du deuxième feuillet de la membrane coquillière.

Par conséquent, comme pour les œufs blancs, les enveloppes des œufs bruns peuvent se dissocier en cinq feuillets, qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, les pellicules externe, moyenne et interne de la coquille, puis les premier et deuxième feuillets de la membrane coquillière. Ces membranes ont une fragilité qui croît de la plus profonde à la plus superficielle, comme pour les œufs blancs, et cette fragilité est sensiblement la même que celle des membranes de ces œufs blancs.

Examinons-les à l'aide du microscope.

Nous pouvons répéter, pour les deux feuillets de la membrane coquillière et pour la pellicule interne, ce que nous avons dit précédemment à propos des œufs blancs. Ils ont, en effet, la même teinte blanche, présentent les mêmes réactions tinctoriales et aussi la même structure, à savoir : un enchevêtrement de fibres, très complexe, très serré, très dense dans le premier feuillet, qui devient moins épais et s'éclaircit dans le deuxième et dans la pellicule interne.

La pellicule moyenne est brune. Vue au microscope, elle ne présente aucune structure spéciale, aucun enchevêtrement de fibres. On observe tout simplement une coloration uniforme brun clair dans toute son étendue. Mais si on l'examine à un fort grossissement, à l'immersion, on s'aperçoit que la pellicule contient une quantité formidable de petits grains foncés excessivement fins, de quelques fractions de μ à 1 au maximum.

Ces grains paraissent entourés d'une auréole blanche, brillante. La coloration est obtenue par les colorants acides : l'éosine, par exemple, ou par le violet de gentiane phéniqué; mais ne l'est pas par le bleu de méthylène.

Après coloration, l'examen microscopique ne révèle plus aucune granulation et nous avons l'aspect de la pellicule moyenne d'une coquille blanche : coloration uniforme violette ou rouge suivant le colorant employé. C'est probablement parce que les grains sont complètement enrobés dans une substance albuminoïde qui les recouvre de toutes parts et qui perd sa transparence après coloration.

La pellicule externe de la coquille, qui est brune, présente les mêmes réactions tinctoriales que la précédente et que son homologue des œufs blancs. Vue à l'immersion, nous notons, également, la présence de granulations foncées, très fines, entourées d'une zone brillante réfringeante.

Par conséquent, nous pouvons dire que la coloration foncée de la coquille de certains œufs est due à la coloration brune des pellicules externe et moyenne, laquelle teinte foncée des pellicules résulte de la présence de grains brunâtres semés en nombre considérable dans toute leur étendue.

Cette coloration, bien que paraissant assez faible lorsqu'on examine une pellicule isolée, devient très nette lorsqu'on l'observe par contraste sur un fond blanc, ainsi, en posant la préparation sur une feuille de papier. C'est ce qui se produit dans la coquille, où les couches minérales sont blanches : nous avons vu, en effet, plus haut, qu'après isolement de la pellicule externe, sous l'action de l'acide acétique, la couche sous-jacente était devenue blanche comme la face interne de la coquille.

Donc, la coloration foncée n'existe qu'au niveau des deux premières pellicules. Aucun pigment n'est déposé dans la substance minérale, qui est rigoureusement blanche.

Et cependant, lorsque nous avons gratté la coquille, nous avons vu que la teinte brune du début pâlissait insensiblement et surtout régulièrement, jusqu'à la teinte blanche. Il est pro-

bable que, dans cette opération, nous arrachions des lambeaux de pellicule, qui se mélangeaient à la substance minérale et la coloraient en brun. De sorte que nous ne pouvions examiner les différentes teintes traversées, correspondant aux différentes couches (première pellicule brune, première couche minérale blanche, deuxième pellicule brune).

c) **La substance minérale**. — Si l'on suit maintenant, pas à pas, la déminéralisation progressive de fragments de coquille dans la solution acide et si l'on raisonne, de la même façon que pour les œufs blancs, les faits observés, nous aboutissons aux mêmes conclusions quant à la disposition de la substance minérale. La constitution complète des enveloppes est donc la suivante : à la surface externe de la coquille est appliquée la pellicule externe, constituée par une membrane d'albumine, constellée de grains foncés qui lui donnent sa teinte brune, pellicule sans structure spéciale, sans solution de continuité, ne contenant par conséquent aucune substance minérale.

Sous cette pellicule, une couche minérale blanche, ne contenant aucun pigment.

Puis la pellicule moyenne, constituée exactement comme la pellicule externe, mais un peu plus épaisse que cette dernière.

Une deuxième couche minérale.

Une troisième pellicule, ou pellicule interne, incrustée de sels minéraux.

Une troisième couche minérale, puis les deux feuillets de la membrane coquillière.

Telle est la structure des enveloppes des œufs à coquille brune.

En résumé, elle se distingue de celle des enveloppes des œufs blancs, par la présence de granulations foncées dans les deux premières pellicules et par une seule réaction tinctoriale : nous avons vu, en effet, que la pellicule moyenne était colorée par le bleu de méthylène chez les œufs blancs, mais ne l'était pas chez les œufs bruns.

CHAPITRE III

PERMÉABILITÉ DES ENVELOPPES

Il pourrait apparaître, d'après cette analyse de la structure des enveloppes, que le contenu de l'œuf est rigoureusement isolé du milieu extérieur et protégé d'une façon absolument parfaite contre tous les agents divers de ce milieu (microbes-moisissures), lesquels, s'ils pouvaient agir sur lui pourraient le détruire ou l'altérer plus ou moins profondément. Du point de vue particulier auquel nous nous plaçons, il semblerait alors que la pénétration de moisissures à travers la barrière si complexe des enveloppes de l'œuf, soit parfaitement impossible, que l'on envisage soit la pénétration d'une spore, soit celle d'un filament mycélien.

Pour que cette pénétration se réalise, il faut, en effet, qu'il y ait réellement perforation de membranes qui n'offrent naturellement aucune solution de continuité, cheminement à travers un lacis de fibres, épais, serré, inextricable, et ce, sur une assez grande épaisseur ; enfin, cheminement à travers plusieurs couches de substances minérales.

Aussi l'on peut dire que si vraiment la structure des enveloppes est, dans toute leur étendue, telle que nous l'avons décrite, si elle ne présente en aucun endroit de la surface de l'œuf des points de moindre résistance par absence d'un ou de plusieurs des éléments enveloppants et si aucune cause ne vient la modifier ou l'altérer en quelque endroit que ce soit, la contamination mycélienne est absolument impossible.

Et cependant, nous avons vu, au début de ce travail, que plusieurs auteurs avaient vérifié la possibilité de cette contamination. C'est donc qu'il existe des voies d'accès pour les agents extérieurs. Ces portes d'entrée seraient constituées par les pores. Voyons en quoi ils consistent.

Les pores de la coquille. — Nous inspirant de l'expérience de Gayon, nous réalisâmes la suivante : à l'aide d'une petite scie à verre, on scie avec précaution la coquille de deux œufs, suivant un cercle à peu près équidistant des pôles. On sépare les deux moitiés de chaque œuf, on les vide totalement de leur contenu et l'on obtient ainsi quatre moitiés de coquilles qui n'offrent aucune fêlure, aucune brisure irrégulière. On en lave plusieurs fois l'intérieur sous un courant d'eau pour les débarrasser de toute l'albumine. A une demi-coquille de chaque œuf on arrache les deux feuillets et la membrane coquillière, lesquels feuillets sont laissés aux deux autres demi-coquilles. Puis chacune de ces demi-coquilles étant disposée comme un godet, on verse dans celles du premier œuf une solution aqueuse de bleu de méthylène, dans les autres de l'éosine à l'eau.

Au bout de trois ou quatre heures, on note à la face externe de toutes les coquilles l'apparition d'un pointillé très abondant, bleu ou rouge, suivant le colorant. Ces points colorés sont beaucoup plus fins et moins nombreux aux pôles de l'œuf qu'à l'équateur. L'apparition de ces points se produit sensiblement dans le même temps, quel que soit le colorant et que la membrane coquillière ait été enlevée ou laissée.

Si nous répétons les mêmes expériences sur des œufs à coquille brune, nous faisons les mêmes observations : le bleu de méthylène et l'éosine traversent aussi vite l'un que l'autre la coquille, que celle-ci ait été ou non débarrassée de sa membrane coquillière.

Enfin, nous pouvons noter également que l'apparition des points colorés se produit dans le même temps, aussi bien pour les œufs bruns que pour les œufs blancs, temps qui est de trois ou quatre heures environ.

D'autre part, nous avons pu nous rendre compte que les enveloppes membraneuses de l'œuf laissent parfaitement bien passer les liquides à la façon d'un filtre, en faisant l'expérience suivante : on rode l'extrémité du tube d'un petit entonnoir,

de façon qu'elle ne présente plus aucune aspérité et on la coiffe avec un fragment du premier feuillet de la membrane coquillière. On rabat les bords de celui-ci sur le tube et on l'y maintient à l'aide d'une fine ligature. Si l'on verse alors, dans l'entonnoir, de l'eau distillée ou une solution de bleu de méthylène ou d'éosine, on constate qu'il se produit une véritable filtration et que les liquides s'écoulent lentement goutte à goutte.

Nous n'avons pas répété l'expérience avec le deuxième feuillet. Celui-ci, présentant une structure plus lâche que le précédent, on peut affirmer *a priori* que les liquides auraient filtré plus rapidement encore. Il en est de même pour la pellicule interne.

Pour les autres pellicules, l'expérience est très difficile à réaliser, étant donné leur extrême fragilité : le plus souvent, nous les avons déchirées en essayant de les poser sur l'entonnoir. Et, cependant, il eût été intéressant de vérifier si ces pellicules, étant donné leur constitution, jouent le rôle de filtre au même titre que les membranes précédentes.

Mais nous pouvons faire la remarque suivante : c'est que l'eau ne mouille pas la surface d'un œuf. Celui-ci se comporte comme un corps que l'on aurait graissé ou vernissé : après immersion, l'eau n'y adhère que par endroits. La pellicule externe jouerait donc ce rôle de vernis protecteur. On peut alors en inférer que si l'on pouvait faire un filtre avec une telle membrane, il se comporterait vis-à-vis de l'eau comme un filtre fait avec du papier légèrement graissé ; à travers un tel filtre, l'eau ne pourrait passer qu'au bout d'un assez long moment. Nous pouvons dire alors : la pellicule externe et partant, l'interne, qui lui est tout à fait semblable, laissent passer l'eau, mais difficilement et après un assez long moment de contact.

Par suite, si l'on considère maintenant les enveloppes de l'œuf toutes ensemble, nous dirons qu'elles laissent certainement filtrer les solutions aqueuses ou alcooliques, mais dans des temps qui pourront être assez longs.

D'ailleurs, une preuve de ce fait nous est fournie par une expérience réalisée par Cartier. Rappelons-là : « Des œufs sont immergés dans de l'eau distillée, à la température du laboratoire, pendant cinquante-trois jours. A l'ouverture, aucune trace d'eau n'est constatée entre les deux membranes coquillières.

« Pendant cinq à neuf jours, l'œuf ne change pas de poids, puis l'eau pénètre ; le poids de l'œuf croît et d'autant plus fortement que l'œuf était plus vide au moment de l'immersion. La perméabilité s'établit d'autant plus vite et l'augmentation de poids est d'autant plus grande que la coquille est moins résistante et que la température est plus élevée. Les coquilles fortes, pigmentées, offrent par rapport aux autres un retard de trois ou quatre jours à la pénétration qui, en outre, est ralentie.

« Si, avant l'immersion, on a détruit la pellicule albumineuse revêtant la coquille, par brossage énergique ou grattage à sec, l'augmentation de poids peut être notée dès la vingt-quatrième heure. On peut noter, en quarante-six jours, une augmentation dépassant 6 % du poids initial, atteignant la limite maximum, par réplétion complète de l'œuf, que traduit la disparition de la chambre à air. »

Il est donc bien certain que l'eau a filtré au travers des enveloppes des œufs. Or, ce qu'il est intéressant de noter et qui vient fournir une preuve à ce que nous avons dit, à propos des pellicules externe et moyenne, c'est que le poids de l'œuf ne commence à croître qu'au bout de cinq à neuf jours d'immersion ; et, à partir de ce moment, cet accroissement se poursuit régulièrement jusqu'à réplétion complète de l'œuf. Comme nous avons vu que la membrane coquillière et la pellicule interne laissaient filtrer l'eau presque instantanément, le retard de cinq à neuf jours apporté ici ne peut être dû qu'aux deux pellicules superficielles. Elles se sont donc comportées tout à fait comme des membranes légèrement vernissées ou graissées ;

au début, elles arrêtent l'eau totalement, puis, peu à peu, elles se laissent imbiber et, à ce moment, elles jouent le rôle de simples membranes filtrantes.

On peut encore tirer la conclusion suivante : c'est que, malgré la plus grande solidité apparente de la pellicule moyenne, c'est à l'externe surtout que revient ce rôle de protection contre les liquides. En effet, dans l'expérience de Cartier, le grattage ou le brossage énergique de la surface de l'œuf fait que l'augmentation de poids se produit dès la vingt-quatrième heure ; or, dans cette opération, c'est la pellicule externe qui a été détruite.

Nous pouvons relever encore que, pour les œufs à coquilles pigmentées, la pénétration retarde de trois ou quatre jours, et, de plus, que cette pénétration est ralentie. Nous ne pensons pas que ce fait tienne à une question d'épaisseur des coquilles.

Des mensurations effectuées à l'aide d'un vernier et portant sur les coquilles de vingt-et-un œufs, dont neuf bruns et douze blancs, nous ont donné les épaisseurs suivantes :

Pour les œufs bruns, quatre étaient de 0 $^{m}/^{m}$ 3 et cinq de 0 $^{m}/^{m}$ 4.

Pour les œufs blancs, cinq avaient 0 $^{m}/^{m}$ 3 et sept avaient 0 $^{m}/^{m}$ 4.

D'où : les coquilles brunes ont 0 $^{m}/^{m}$ 3 d'épaisseur dans 44,5 % des cas, et 0 $^{m}/^{m}$ 4 dans les 55,5 % des autres cas.

Pour les coquilles blanches, 41,66 % ont 0 $^{m}/^{m}$ 3 et 58,33 % ont 0 $^{m}/^{m}$ 4.

Il n'y a donc pas de grandes différences dans les moyennes. Naturellement, ces chiffres n'ont pas grande valeur, car il faudrait que ces mensurations soient effectuées sur un très grand nombre d'œufs.

Néanmoins, nous pensons que le ralentissement constaté est plutôt dû à la différence de constitution intime des membranes. Nous avons vu, en effet, que la pellicule moyenne des œufs blancs est colorée par le bleu de méthylène alors que celle des œufs bruns ne l'est pas. D'autre part la présence de granu-

lations dans les deux premières pellicules des œufs bruns, augmente peut-être la résistance de celles ci ; ou peut-être, ces deux pellicules brunes sont-elles plus épaisses que leurs homologues des œufs blancs ; ou bien enfin, cette sorte de vernis, entrant dans la constitution de ces pellicules, est-il plus abondant dans celles-là que dans celles-ci.

Dans notre expérience avec les colorants, ceux-ci ont donc passé par filtration, au travers des différentes membranes. Or, ils n'ont passé qu'en des points déterminés. Là où ils n'ont pas passé, c'est qu'en plus des membranes, un autre élément était interposé, élément qui ne peut être que les diverses couches de substances minérales. Par conséquent, cette substance n'est pas répartie d'une façon uniforme entre les différentes membranes ; en certains points, elle fait défaut et ces points correspondent aux pores de la coquille. Alors, pore = enveloppe de l'œuf — substance minérale = superposition de cinq feuillets dont deux n'offrent aucune solution de continuité et présentent une certaine résistance à la filtration des liquides.

Donc, nous pouvons dire, qu'à l'endroit des pores il n'existe aucun trajet, aucun orifice si petit soit-il creusé dans l'épaisseur de la coquille ; qu'un œuf fraîchement pondu, et dont les enveloppes sont intactes, a son contenu parfaitement isolé du milieu extérieur. Ce que l'on appelle « pores », ce sont des points de moindre résistance dus à l'absence de sels minéraux protecteurs.

Il se peut d'ailleurs, que cette absence de sels minéraux en certains points, dessine dans la coquille des trajets droits et perpendiculaires à la surface de celle-ci, ainsi que le veut Gayon. Ceci expliquerait, dans son expérience citée précédemment, la symétrie des pointillés observés sur les faces externe de la coquille et interne de la membrane coquillière, la filtration de l'encre au travers des membranes, s'effectuant alors dans un véritable tube à parois de substance minérale.

CHAPITRE IV

CONDITIONS DE L'INFECTION

Dans ces conditions, étant donné la structure si complexe des enveloppes, on peut se demander de quelle façon peut s'effectuer la pénétration mycélienne jusque dans le contenu de l'œuf.

Il semble que nous puissions admettre *a priori*, d'après ce que nous savons de cette structure, qu'un œuf fraîchement pondu, dont les enveloppes sont intactes dans toute leur étendue, est absolument à l'abri, tout au moins pendant un certain temps, de toute contamination venant de l'extérieur.

Mais il est probable qu'assez rapidement, par suite de changements de température, d'états hygrométriques, il se produit une dessication de la pellicule externe, des contractions successives des différentes membranes, entraînant leur déchirure ; que les chocs, les manipulations diverses, entraînent des fêlures de la coquille. Dès lors, la barrière protectrice de l'œuf présentera des fissures, à la faveur desquelles un filament mycélien pourra s'insinuer.

Cependant, si nous nous rappelons les idées générales dégagées de l'étude historique de la question, nous avons vu que deux conditions étaient à peu près indispensables à la réalisation du phénomène, à savoir : 1° L'humidité d'abord ; et, 2° présence au contact immédiat de l'œuf d'une substance dans laquelle le germe pourra évoluer, ensuite.

L'humidité aura pour rôle de favoriser le développement du végétal. Mais elle aura un second rôle, non moins important.

a) **Rôle de l'humidité.** — Pour bien le comprendre, souvenons-nous de l'expérience de Cartier, qui immergea des œufs dans de l'eau distillée et constata au bout d'un cer-

tain temps que ces œufs avaient été pénétrés par le liquide ambiant, jusqu'à leur réplétion complète, que traduisait la disparition totale de la chambre à air. Cette filtration de l'eau à travers les membranes s'est produite parce que, l'œuf étant immergé, l'eau était à sa surface à une certaine pression qui correspondait à la profondeur de l'immersion. Mais aussi, elle a été favorisée grandement, par suite de l'existence d'une propriété particulière de la membrane coquillière que nous ne pouvons pas négliger.

C'est Gayon qui, en 1874, dans une note à l'Académie des Sciences, signala cette propriété : « Une telle membrane, bien continue, jouit d'un pouvoir endosmotique considérable. Mais elle ne permet la diffusion moléculaire que dans un sens ; endosmose rapide de l'extérieur vers l'intérieur et endosmose presque nulle de l'intérieur vers l'extérieur.

« Expérience : dans deux osmonètres, dont les réservoirs avaient 1 cm. de diamètre et 5 cm. de haut, et dont les tubes avaient 1 mm. de diamètre, on verse une solution aqueuse, encrée, de sucre candi au quart. On ferme les réservoirs avec les fragments d'une membrane coquillière d'un même œuf, mais en inversant les faces. On plonge les appareils dans l'eau distillée. Dans l'osmomètre, où la face externe de la membrane était en contact direct avec l'eau distillée, le niveau du liquide s'est élevé de 10 cm. en une demi-heure. Dans l'autre, l'ascension ne se produisit que sur quelques millimètres. »

Reprenons, alors, l'expérience de Cartier. Au bout de quelques jours d'immersion, l'eau, par suite de l'imbibition progressive des différentes pellicules, arrive au contact de la membrane coquillière. A ce moment, du côté de la face interne de la membrane, se trouve l'albumine de l'œuf, qui représente une solution à concentration moléculaire élevée. Du côté de la face externe se trouve l'eau distillée, de concentration moléculaire nulle. Par conséquent, l'eau traversera la membrane pour aller diluer le liquide qui se trouve de l'autre côté. La différence de concentration moléculaire entre les deux liquides

étant considérable, l'eau distillée sera véritablement aspirée à travers la membrane coquillière, vers l'intérieur de l'œuf.

Par conséquent, dans l'expérience de Cartier, il y avait lieu de considérer, en plus de la filtration, un phénomène d'osmose qui facilitait considérablement le passage de l'eau à travers la coquille.

Supposons maintenant qu'une spore mycélienne se trouve à la surface d'un œuf et que la température ambiante s'abaisse brusquement. La surface de la coquille se refroidit et il s'ensuit à son niveau une condensation de vapeur d'eau. L'eau formée imbibera les différentes enveloppes de la coquille et, peu à peu, arrivera à la membrane coquillière. A ce moment, le phénomène d'osmose se produira et l'eau sera entraînée à l'intérieur de l'œuf.

Si la spore mycélienne se trouvait en un de ces points de moindre résistance ou pores et qu'à cet endroit les différentes enveloppes aient été lésées par une des causes citées plus haut, ou bien si elle se trouvait sur une ligne de fêlure des couches minérales de la coquille, l'eau pourra l'entraîner à son tour jusqu'à la membrane coquillière et la spore pourra se développer.

D'ailleurs, cette pénétration pourra s'effectuer en plusieurs fois, chaque changement de température ou d'état hygrométrique créant de nouvelles lésions dans les membranes et favorisant le cheminement ultérieur de la spore.

D'ailleurs, les expériences de Gayon, Pancéri, Lucet et d'autres auteurs qui réussirent à infecter des œufs en les plaçant en atmosphère humide, ce qui entraînait une condensation de vapeur d'eau à leur surface, apportent des preuves à cette explication ; de même, l'expérience d'Artault, qui réussit à faire passer du B. Prodigiosus sous l'influence d'un changement de température.

b) **Autre cause favorisante.** — La présence à la surface de l'œuf d'une substance propice au développement

du germe (deuxième condition), accroîtra évidemment les chances de contamination ; le végétal aura sa vitalité accrue ; il croîtra, s'étalera en tous sens et, ainsi, aura plus de chances de trouver le point faible de la coquille qui lui servira de porte d'entrée. Mais, comme nous allons le voir, cette contamination n'est possible que si la première condition est réalisée

---

CHAPITRE V

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE CONTAMINATIONS

Nous avons réalisé quelques expériences de contamination expérimentale des œufs.

Le 24 novembre 1929, nous prenons un œuf brun et un œuf blanc, qui se montrent intacts au mirage et dont la coquille est nette de toute érosion, de toute fêlure. A leur surface, nous déposons une très légère couche de bouillon gélatiné (gros comme une lentille) et nous ensemençons cette tache nutritive avec des spores de moisissures variées, provenant de pain moisi. Nous laissons le tout à la température du laboratoire, la gélatine étant exposée à l'air libre. Trois jours plus tard, un léger développement est observé sur la tache. Le 4 décembre 1929, le développement mycélien n'a pas progressé, la gélatine est complètement desséchée. Les œufs, mirés à nouveau, et examinés après cassage, se montrent parfaitement sains.

Le 6 décembre 1929, trois œufs, dont un blanc et deux bruns, ne présentent aucune altération au mirage. Nous enduisons de gélose nutritive une large surface de leur coquille (comme une pièce de deux francs) et, sur cette surface, nous saupoudrons des spores variés, provenant de la même source que précédemment. Nous abandonnons encore ces œufs à la température du laboratoire et la gélose exposée encore à l'air libre. Les moisissurent se développent et, au bout de quatre jours, leur développement s'arrête ; la gélose se dessèche. Le 4 décembre 1929, les œufs, après mirage et cassage accusent encore un résultat négatif ; aucun développement ne s'est produit à l'intérieur.

Le 16 décembre, on dispose au fond d'une boîte un lit de coton qu'on imbibe d'un peu de bouillon gélatiné et on sau-

poudre la surface de ce lit avec des spores provenant toujours du pain moisi (le lit en est brun). Puis, sur ce coton, on place un œuf brun et un blanc, reconnus parfaitement sains au mirage. La boîte et son contenu sont laissés à la même température que précédemment. Là, le développement des moisissures est beaucoup plus abondant que dans les autres cas, mais il s'arrête également au bout de trois jours. Le 28 décembre, les œufs sont mirés et cassés et se montrent intacts.

Le 28 décembre 1929, on dispose au fond d'une boîte un lit de coton préalablement imbibé d'eau et on répand à sa surface du bouillon gélatiné, lequel est ensemencé de spores. Deux œufs bruns et deux blancs, toujours reconnus sains au mirage, sont disposés côte à côte, sur ce lit. Nous les recouvrons ensuite d'une couche de coton humide et nous les laissons à la température du laboratoire. Le 3 janvier 1930, le développement des moisissures est considérable et leurs filaments rampent en abondance à la surface des œufs ; les deux œufs blancs examinés au mirage se montrent tachés et le jaune est adhérent à la coquille Au cassage, l'albumine est très liquide, par endroits, épaisse et louche dans d'autres. La face interne de la membrane coquillière, vue à un faible grossissement, montre, à l'endroit des taches, une véritable forêt de filaments mycéliens. Quant aux deux œufs bruns, ils ne montrent, au mirage, aucune altération et le cassage les révèle absolument sains.

Nous voyons, par ces expériences, que la question d'humidité est de première importance pour que la pénétration des germes se réalise.

Bien que, dans les trois premiers cas, nous ayions placé au contact immédiat de la coquille des substances nutritives telles que du bouillon gélatiné ou gélosé, la pénétration ne se produisait pas, même au bout de treize jours, parce que nous opérions dans une atmosphère trop sèche. A la quatrième fois, les œufs étant placés entre deux couches de coton imbibé d'eau, nous avons ainsi créé, autour d'eux, une atmosphère humide et, en six jours, la pénétration a été réalisée.

Il n'est pas douteux que l'humidité a favorisé beaucoup, dans cette dernière expérience, le développement des moisissures. Mais il est certain que son rôle a été aussi, et surtout, de les aider à traverser la coquille selon le processus que nous avons déjà expliqué, car, dans les expériences précédentes, il y avait également un développement mycélien pendant les trois ou quatre premiers jours, et, cependant, il n'y a jamais eu de pénétration.

Il est à noter encore que, même dans les meilleures conditions, conditions qui étaient d'ailleurs semblables en tous points à celles dans lesquelles se trouvaient les œufs blancs, les œufs bruns n'ont pas été contaminés. Nous ne pouvons évidemment inférer de la simple constatation de ce fait, portant sur deux œufs seulement, que les coquilles brunes se laissent plus difficilement traverser par les moisissures que les coquilles blanches. Mais Cartier nous a montré que leur perméabilité aux liquides est beaucoup plus faible que celle des blanches. Par suite, l'action de l'humidité sur ces coquilles sera beaucoup moindre, et la contamination aura beaucoup moins de chance de se produire, cette action de l'humidité en étant un des principaux facteurs.

Aussi, nous pensons pouvoir affirmer d'une façon générale que les œufs à coquille brune résistent beaucoup mieux que ceux à coquille blanche à la contamination par des germes mycéliens venus de l'extérieur.

CONCLUSIONS

De cette étude, nous pouvons tirer quelques conclusions qui, peut-être, pourraient avoir une certaine importance au point de vue de la conservation des œufs.

D'une façon générale, le moyen de cette conservation est de protéger l'œuf, ou plus exactement son contenu, d'une façon aussi complète que possible contre toutes les contaminations provenant de l'extérieur.

Or, la première protection naturelle est constituée par les enveloppes de l'œuf et nous avons vu que, sur un œuf qui vient d'être pondu, les enveloppes encore intactes constituent une protection absolument parfaite. Par conséquent, il y aurait intérêt à mettre en conserve, non pas toujours des œufs qui se montrent sains au mirage — ceux-ci, en effet, s'ils ont été déjà manipulés pendant plusieurs jours, peuvent présenter des lésions invisibles de leurs enveloppes et si, par exemple, on les plonge dans des bains conservateurs septiques, la filtration qui s'opère au début, avant l'obturation des pores, pourra entraîner toutes sortes de germes à l'intérieur — mais seulement des œufs dont la ponte est toute récente (deux ou trois jours par exemple). Nous savons que, dans de telles conditions, la pénétration des germes n'est guère possible et, dans ce cas, la conservation, par quelque procédé que ce soit, ne fera qu'accroître cette impossibilité.

D'autre part, nous avons vu le rôle que jouaient l'humidité et la température. La conséquence est donc que, dans les procédés de conservation autres que les bains, il sera de toute nécessité d'éviter autour des œufs un excès d'humidité et de maintenir une température et un état hygrométrique constants sans pour cela que la température soit trop haute, ou que soit trop grande la sécheresse de l'air, sous peine de voir les œufs

diminuer de poids, par évaporation de leur eau de constitution.

Enfin, il y aurait intérêt à mettre en conserve des œufs bruns, lesquels, nous l'avons vu, résistent aux contaminations beaucoup mieux que les blancs.

Vu : Le Doyen :
H. ROGER.

Vu : Le Président de Thèse :
LEMIERRE

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie :
CHARLETY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

CARTIER. — *Perméabilité aux liquides, des enveloppes de l'œuf.* Rapport sur les opérations du service vétérinaire sanitaire de Paris et du département de la Seine, pendant l'année 1927.

CHRÉTIEN. — *L'infection des œufs.* Revue d'hygiène de la viande et du lait, 1908.

— *Bactériologie des œufs.*

— *Composition de l'œuf de la poule.* Revue d'hygiène de la viande et du lait, 1910.

GAYON. — *De l'origine des organismes qui se développent dans certaines altérations spontanées des œufs.* Thèse de Doctorat, 1875.

— *Sur quelques propriétés endosmotiques de la membrane de la coque des œufs d'oiseaux.* Compte rendu à l'Académie des Sciences, 1874.

LINDET. — *Mesure de l'altération des œufs.* Compte rendu à l'Académie d'Agriculture, le 21 mars 1917.

LUCET. — *Sur le mycose des œufs en incubation.* Bulletin de la Société Centrale de Médecine vétérinaire, 1896.

PANCERI. — *Atti della Societa Italiana di Scienze Naturali*, Milan, 1860.

RAPPIN. — *L'infection bacillaire des œufs.* Congrès international du Froid, 1908.

ROLET. — *Les altérations des œufs.* La Nature, 12 juin 1920.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

CHAPITRE PREMIER. — Historique 1

CHAPITRE II. — Structure des enveloppes des œufs de poule.... 5

A. — *Structure des enveloppes des œufs blancs.*

a) Anatomie 5

b) Le stroma organique..... 6

c) La substance minérale 9

B. — *Structure des enveloppes des œufs bruns.*

a) Anatomie..... 11

b) Le stroma organique..... 12

c) La substance minérale..... 15

CHAPITRE III. — Perméabilité des enveloppes..... 17

a) Les pores de la coquille..... 18

CHAPITRE IV. — Conditions de l'infection..... 23

a) Rôle de l'humidité 23

b) Autre cause favorisante 25

CHAPITRE V. — Etude expérimentale de contaminations..... 27

Conclusions 30